

Artículo Científico / Scientific Article

Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala

Diagnostic value of blood uPAR proteins for gastric cancer in Guatemala

Irmgardt A. Wellmann^{1*}; Carmen I. Villagrán¹; Rafael Fernández-Botrán²; Elisa Hernández¹;

Ericka Méndez-Chacón³; Clas Une³

¹Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala; Guatemala ²Laboratorio de Patología, Universidad de Louisville, Estados Unidos; ³Instituto de Investigaciones en Salud (Inisa), Universidad de Costa Rica, Costa Rica

*Autor al que se dirige la correspondencia: irmgardtina@gmail.com

Recibido: 28 de mayo 2018 / Revisión: 13 de junio 2018 / Aceptado: 27 de junio 2018

Resumen

El cáncer gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo, Guatemala posee altas tasas de incidencia y mortalidad. *Helicobacter pylori* se ha identificado como un carcinógeno gástrico, especialmente si la infección es por cepas que expresen factor de virulencia CagA, asociado a lesiones atróficas y precancerosas. Reportes previos indican que el análisis de biopsias gástricas en pacientes positivos para *H. pylori*, muestran un incremento de la expresión del activador del plasminógeno uroquinasa (uPA) y su receptor (uPAR). El presente estudio tuvo como objetivo determinar el valor diagnóstico de uPAR en sangre como marcador de cáncer gástrico en Guatemala y la asociación de uPAR con la infección por de *H. pylori*. Se tomaron muestras sanguíneas de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico ($n = 68$) y controles sanos apareados por edad y sexo ($n = 136$) en cuatro instituciones de la ciudad de Guatemala, se determinó uPAR e IgG anti *H. pylori* por metodología Elisa. Los niveles de uPAR en pacientes con cáncer estaban significativamente elevados ($p < .001$), no se encontró diferencia por edad, sexo, apariencia macroscópica o microscópica del tumor. El cáncer gástrico se asoció significativamente a *H. pylori* ($p = .03$). El coeficiente de correlación biserial indica una relación negativa débil ($rb = -0.01$, $p = .443$) entre uPAR y *H. pylori*. Las curvas ROC en uPAR reportaron alta precisión (área bajo la curva = .80) para identificar cáncer gástrico. Estos resultados sugieren que los niveles séricos de uPAR pueden tener valor en el diagnóstico cáncer gástrico.

Palabras claves: Neoplasia, estómago, urokinasa, *Helicobacter*, anticuerpos

Abstract

Gastric cancer is the most frequent neoplasm of the digestive tract, Guatemala has high incidence and mortality rates. *Helicobacter pylori* has been identified as a gastric carcinogen, especially if the infection is by strains expressing virulence factor CagA which is associated with atrophic and precancerous lesions. Previous reports indicate that gastric biopsy analyses in *H. pylori* positive patients show increased expression of urokinase plasminogen activator (uPA) and its receptor (uPAR). The present study aimed to determine the diagnostic value of uPAR in blood as a marker of gastric cancer in Guatemala and the association of uPAR with infection by of *H. pylori*. Blood samples were collected from patients diagnosed with gastric cancer ($n = 68$) and healthy controls matched by age and sex ($n = 136$) at four institutions in Guatemala City and analyzed for uPAR and anti-*H. pylori* IgG. uPAR levels in cancer patients were found to be significantly elevated ($p < .001$), but were not influenced by age, sex, macroscopic or microscopic appearance of the tumor. Gastric cancer was significantly associated with *H. pylori* ($p = .03$). The serial correlation analysis used to determine the correlation of uPAR with *H. pylori* showed that there is a non-significant weak negative Pearson's correlation coefficient ($r = -0.01$, $p = .443$) between both. The ROC curves for uPAR indicated high precision (AUC = 0.80) for detection of gastric cancer. These results suggest that serum uPAR levels may be valuable in the diagnosis of gastric cancer.

Keywords: neoplasia, stomach, urokinase, *Helicobacter*, antibodies

Introducción

El cáncer gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo en el mundo (Ferlay et al., 2015). Según datos de la Organización Mundial de la Salud, se reporta que ocupa el quinto lugar alrededor del mundo y tiene una incidencia del 6.8% y una mortalidad de 8.8%. En Guatemala, el cáncer gástrico presenta una alta incidencia (arriba de 13/100,000 habitantes/año) y mortalidad (Bray, Ren, Masuyer, & Ferlay, 2013; Ferlay et al., 2015; International Agency for Research on Cancer, 2012; Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología, 2015). Esta neoplasia afecta en su mayoría a personas de edad avanzada, siendo el promedio de edad de diagnóstico de 70 años. Existen diversos factores de riesgo para padecer este tipo de cáncer, entre los que se encuentran la edad avanzada, el sexo masculino, factores genéticos relacionados con el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), pobreza, dieta, sobrepeso u obesidad, e infección por *Helicobacter pylori*. Esta bacteria es la mayor causante de cáncer gástrico, especialmente de la parte distal del estómago, y ha sido categorizada por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer como carcinógeno humano del grupo 1 (American Cancer Society, 2010; Herrera-Goepfert, 2004; Nagini, 2012).

El riesgo promedio de que una persona desarrolle cáncer gástrico en su vida es de 1 en 116, siendo este riesgo mayor en hombres que en mujeres, y pudiendo verse afectado por un número de otros factores. Es más común en ciertas regiones del mundo como el Este de Asia, Asia central y los países latinoamericanos con costa pacífica. Igual que en otros cánceres, la etiología es multifactorial (Nagini, 2012).

El avance en la investigación científica ha permitido identificar que al menos dos factores de virulencia de *H. pylori* se asocian con mayor frecuencia al desarrollo de cáncer gástrico; estos son los genes *Cag-A* y *Vac-A* que se expresan por medio de exotoxinas de mismo nombre (CagA y VacA). Las cepas que expresan estas toxinas son más agresivas, lo que ocasiona mucho daño en el tejido del estómago (Correa, 2011), razón por la cual es necesario profundizar la investigación en la tipificación de las mismas dentro de la población guatemalteca.

Durante la infección por *H. pylori*, éste se ubica en el antro gástrico y a lo largo de los años va afectando el tejido hacia arriba o hacia abajo. En el primer caso puede generar atrofia, metaplasia, displasia y adenocarcinoma, o puede seguir hacia abajo del antro y afectar

el píloro y el duodeno, y generar una úlcera duodenal. Adicionalmente, los pacientes con cáncer gástrico tienen un rango mayor de infección por *H. pylori* que las personas sin cáncer. La infección también está ligada a algunos tipos de linfomas gástricos (American Cancer Society, 2010).

Por otro lado, una mayoría de personas portan esta bacteria y nunca desarrollan cáncer, lo que probablemente esté relacionado con la susceptibilidad genética del huésped y otros factores entre los que se encuentran los genes de citoquinas que participan en la regulación de la respuesta inflamatoria (Cañas, 2009; Serrano, Candelaria-Hernández, Salazar, & Herrera, 2009) y la virulencia de la cepa colonizadora (Park, Forman, Waskito, Yamaoka, & Crabtree, 2018; Pormohammad et al., 2018).

En una colaboración entre el Instituto Finsen en Copenhague, Dinamarca y el Instituto de Investigaciones en Salud (Inisa) de Costa Rica, se ha realizado recientemente un estudio del Receptor del Activador de Plasminógeno uroquinasa (uPAR), que es inducido por la bacteria *H. pylori* en donde se concluyó que uPAR es un indicador de la presencia de tumor gástrico. La expresión de uPAR en casos de cáncer gástrico sugiere que la positividad para uPAR puede proporcionar información pronóstica en la evolución del cáncer (Alpizar-Alpizar et al., 2009; Danø et al., 1994).

Guatemala es uno de los países con tasas de incidencia y de mortalidad más altas de cáncer gástrico en el mundo. La mortalidad es muy alta debido, en la mayoría de los casos, a que el tumor es diagnosticado en una etapa muy avanzada de la enfermedad cuando es muy probable que el tratamiento falle (Zilling, Walther, & Ahren, 1990).

Según informes de los casos de cáncer registrados en el Instituto de Cancerología (Incan) en Guatemala el cáncer gástrico ocupa la cuarta localización más frecuente en ambos sexos y el número de casos ha ido en aumento desde 1999 (Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología, 2008, 2012, 2015), además es la principal causa de mortalidad por cáncer en el sexo masculino (Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología, 2015). Por esta razón, se enfatiza la urgencia de establecer políticas nacionales dirigidas a realizar acciones que logren disminuir ese aumento de la incidencia con el fin de evitar que el cáncer se establezca como una nueva epidemia nacional (Ferlay et al., 2015; Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología, 2015).

El Programa de Epidemiología de Cáncer del Inisa/UCR ha tenido como objetivo principal desarrollar

metodologías para la identificación de individuos y poblaciones en alto riesgo de desarrollar cáncer gástrico; con este propósito, se planteó evaluar marcadores biológicos en sangre para el riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Une, 2005). Se ha determinado que la infección con cepas de *H. pylori* cuando expresan el factor de virulencia CagA está asociado con presencia de lesiones atróficas y precancerosas en la misma población.

Recientemente se ha reportado que el análisis por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (rPCR) de biopsias del cuerpo gástrico, muestran un incremento significativo de la expresión del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA), su receptor (uPAR) y su inhibidor (PAI-I) en pacientes positivos para *H. pylori*. Así mismo numerosos estudios han documentado el valor pronóstico y la utilidad de la proteína uPA y su receptor uPAR en diferentes tipos de cáncer (Inisa, 2014). Por esta razón, el propósito del presente estudio fue determinar las concentraciones de las proteínas uPAR en sangre como marcadores de diagnóstico de cáncer gástrico en Guatemala, así como establecer si la concentración de proteína uPAR está asociada a la infección con *H. pylori*, estudiando para ello dichos marcadores en sujetos con diagnóstico de cáncer gástrico y comparándolos con un grupo control, apareados por edad y sexo.

Finalmente, es importante resaltar, que entre los métodos de diagnóstico actualmente aceptados para diagnóstico de cáncer gástrico, se cuenta con endoscopia que constituye un procedimiento invasivo y costoso (Chen, Huang, Hu, Liu, & Yao, 2018), mientras que la cuantificación de proteínas uPAR podría tener valor como un método de tamizaje inicial que podría reducir costos, dejando la gastroscopia y biopsia únicamente para aquellos casos que resultaran positivos.

Materiales y métodos

Estudio de casos y controles, multicéntrico, desarrollado en el periodo comprendido entre febrero de 2015 a marzo 2016 en el Incan, Hospital Roosevelt, Gastrocentro y Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos.

Muestra

El cálculo de la muestra se realizó a través del programa EPIDAT 3.1, en función de la variable proteínas uPAR y por medio de un contraste o prueba de

hipótesis, con un nivel de confianza de 95% y potencia de 90%, obteniendo 64 casos y 128 controles que fueron apareados por sexo y edad (variación máxima de 3 años) en relación de dos controles por cada caso. Tanto los casos como los controles debieron cumplir correspondientemente con los criterios de inclusión y exclusión que se indican a continuación:

Casos. Criterios de inclusión: diagnóstico de adenocarcinoma gástrico distal/o proximal, incluyendo el cardias del estómago, mayores de edad; criterios de exclusión: pacientes operados por enfermedad remanente o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, pacientes tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, pacientes que han recibido quimio/radioterapia, así como pacientes con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente.

Controles. Criterios de inclusión: Mayores de 18 años, aparentemente sanos, sin historia de cáncer. Criterios de exclusión: personas con cáncer u operados por tumores primarios, personas operadas por enfermedad remanente u operados previamente de cáncer gástrico o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, personas que fueron tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, personas que han recibido quimio/radioterapia, personas con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente y personas con cáncer diagnosticado previamente.

A todos los participantes (casos y controles) previo consentimiento informado se les realizó una encuesta clínico-epidemiológica que incluía los datos relacionados a edad, sexo, procedencia, entre otros. Los casos de cáncer gástrico fueron captados en los servicios de gastroenterología de los centros ya mencionados y los controles fueron captados en los mismos centros y en Facultad de Ciencias Médicas, en los distintos servicios (consulta externa y laboratorio clínico) a donde acuden sujetos libres de diagnóstico de cáncer.

Procesamiento de las muestras

Se realizó por métodos estandarizados en el Centro de Investigaciones Biomédicas, el Inisa y en el Laboratorio de Patología de la Universidad de Louisville.

Métodos de laboratorio. Se tomaron muestras sanguíneas con EDTA y sin anticoagulante que fueron transportadas en cadena de frío al laboratorio clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas, donde se separó el plasma y el suero, y se conservaron en alícuotas a -70°C hasta su posterior procesamiento para las diferentes pruebas.

Serología para *H. pylori*. La serología se basó en el método Elisa, realizando a cada muestra un análisis en dos laboratorios distintos; las variaciones que puede presentar la prueba dependiendo del origen de los antígenos utilizados, se detalla a continuación:

- Guatemala (Centro de Investigaciones Biomédicas): la determinación de la serología para anticuerpos IgG contra *H. pylori* se realizó a través de kits comerciales de Elisa, siguiendo las especificaciones del fabricante.
- Costa Rica (Inisa): se realizó a través de la prueba de Elisa “in-house” siguiendo la metodología validada previamente.

Cuantificación de uPAR en plasma

La determinación cuantitativa de las proteínas uPAR se realizó en el Laboratorio de Patología de la Universidad de Louisville, Louisville, KY, EEUU, a través del kit comercial Quantikine® Elisa Human uPAR Immunoassay de la casa R&D Systems, Inc., siguiendo las especificaciones del fabricante.

Aspectos éticos de la investigación

Se tomaron en consideración los criterios de valor social teniendo presente que la implementación de un método no invasivo en la detección de cáncer gástrico puede tener valor para la población afectada que no tendrá que someterse a un método invasivo y costoso para el diagnóstico. La validez científica se obtuvo realizando un diseño de casos y controles, para que los resultados fuesen válidos y de utilidad; la selección de los sujetos se realizó en respuesta directa a la pregunta de investigación seleccionando los casos y los controles acordes al objeto de estudio.

El proyecto fue catalogado como de Riesgo Moderado (Categoría II), siendo aprobado previo a su inicio por el Comité de Investigación del Instituto de Cancerología, el Comité de Ética del Hospital Roosevelt y el Comité de Bioética en Investigación de la Uni-

versidad de San Carlos de Guatemala. De igual forma, a todos los pacientes se les practicó un consentimiento informado previo a su participación.

Análisis de resultados

Antes de realizar el análisis estadístico, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos se distribuyeron normalmente o no. Debido a la distribución no normal de los datos, se usó la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney para comparar los niveles de las relaciones de uPAR entre los dos grupos y para comparar los tipos microscópicos de tumores. Para el análisis de datos clínicos y epidemiológicos, se usó estadística descriptiva. Para relacionar la positividad para *H. pylori* y presencia de adenocarcinoma, se comparó casos y controles haciendo análisis bivariado. Se usó ANOVA de una vía para investigar si los niveles de uPAR estaban influenciados por la edad, el sexo o las características macroscópicas y microscópicas del tumor. La correlación biserial se utilizó para determinar la relación de biomarcadores, como uPAR con *H. pylori*. Los análisis estadísticos, incluidas las curvas ROC, se realizaron con SAS® 9.4, los valores p de $\leq .05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Datos demográficos de los casos y los controles

Las características demográficas de ambos grupos (Tabla 1), muestran 44% de sexo femenino y el 56% de sexo masculino. La edad promedio de los grupos de cáncer no fue significativamente diferente de los controles para los sujetos tanto mujeres como hombres, aunque el rango de edad promedio de las mujeres fue aproximadamente de dos a tres punto cinco años menor en comparación con los hombres en ambos grupos. El desglose por grupos étnicos mostró que la mayoría de los sujetos de cáncer pertenecían a los grupos ladino (71%) e indígena (28%), con un solo sujeto en la categoría otra etnia, perteneciente al grupo garífuna de Guatemala. El desglose para los sujetos del grupo control fue similar aunque con un número ligeramente mayor de ladinos (87%) respecto al grupo indígena (13%).

Con respecto a la región geográfica de procedencia de los casos (Tabla 2), la región Sur-Oriente (departamentos de Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa) fue la más estudiada con el 27% de los casos, seguida por la región

Tabla 1

Características demográficas de la población estudiada

Variable	Grupo control n = 136, (%)	Grupo con cáncer gástrico n = 68, (%)
Sexo		
Femenino	60 (44.1)	30 (44.1)
Masculino	76 (55.9)	38 (55.9)
Edad		
Femenino	56.5 (26-81 y/o)	56.8 (24-81 y/o)
Masculino	58.8 (24-85 y/o)	60.2 (26-82 y/o)
Etnia		
Ladino	118 (86.8)	48 (70.6)
Indígena	17 (12.5)	19 (27.9)
Otro* (Incluye Garífuna)	1 (0.7)	1 (1.5)

Tabla 2

Región geográfica de procedencia de los casos

Región	número de casos	%
Metropolitana	12	18
Norte	5	7
Nor-Oriente	5	7
Sur-Oriente	18	27
Central	11	16
Sur-Occidente	11	16
Nor-Occidente	6	9
Petén	0	0
Total	68	100

Metropolitana (departamento de Guatemala) con 18% y luego las regiones Central (departamentos de Escuintla, Chimaltenango y Sacatepéquez) y Sur-Occidente (Sololá, Totonicapán, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu y San Marcos) con 16% cada una, siendo la región Petén (departamento de Petén) la menos estudiada.

El centro de captación de los casos y controles fue el Incan con 97 participantes (47% del total, 57% de

los casos y 43% de los controles); le siguen el Hospital Roosevelt con 64 participantes (31% del total, 41% de los casos y 26% de los controles); el Centro de Investigaciones Biomédicas con 42 participantes (21% del total y 31% de los controles); y un participante en la Clínica Gastrocentro (0.5% del total y 1.4% de los casos).

Características patológicas del cáncer gástrico

Macroscópicamente, la presentación más común (72%) fue de lesiones ulcerativas con bordes indistintos, correspondiente al Tipo III en la clasificación de Borrmann, seguida por los tipos I y IV, con 12 y 10% de los casos, respectivamente (Tabla 3).

Microscópicamente, la mayoría de los tumores fueron diagnosticados como tipo intestinal (54%) o difuso (43%), siendo el 3% restante mixto, según la clasificación de Lauren. A pesar de que hubo diversidad en el estudio histológico de los casos de cáncer, los grupos principales según clasificación de la OMS se diagnosticó con más frecuencia pobremente diferenciado, seguido por el “moderadamente diferenciado” con 24 y 13% respectivamente. Respecto a los sitios afectados 63% de los pacientes tenían tumores en un solo sitio, 31% en dos sitios y 6% en tres o más sitios.

Tabla 3

Características del cáncer gástrico

Variable	Número (porcentaje) n = 68
Tipo de tumor (macroscópico – Borrmann)	
Tipo I (polipode)	8 (12)
Tipo II (ulcerativo con bordes elevados)	4 (6)
Tipo III (ulcerativo, con bordes irregulares)	49 (72)
Tipo IV (difuso, con bordes irregulares, linitis plástica)	7 (10)
Tipo V (no clasificable)	0
Tipo de tumor: microscópico (clasificación de Lauren)	
Intestinal	37 (54)
Difuso	29 (43)
Mixto	2 (3)
Presentación (número de sitios)	
Un sitio	43 (63)
Dos sitios	21 (31)
Tres o más sitios	4 (6)
Localización anatómica	
Cardias	0 (0)
Fondo	10 (15)
Cuerpo	24 (35)
Antro	28 (41)
Píloro	6 (9)

Tabla 4

Asociación entre positividad para Helicobacter pylori y casos/controles

		Casos (%)	Controles (%)	Valor de p
<i>Helicobacter pylori</i>	Positivo	46 (70)	73 (54)	.030
	Negativo	20 (30)	63 (46)	

En términos de localización del tumor en el estómago, el antro y el cuerpo fueron los sitios más comunes (41 y 35% respectivamente), seguido por el fundus (15%) y el píloro (9%).

Relación entre cáncer gástrico y positividad para anti *H. pylori*

En cuanto a los resultados obtenidos de las pruebas serológicas realizadas a ambos grupos participantes

(Tabla 4), la presentación de frecuencias de anticuerpos anti *H. pylori* para los casos y controles, puede notarse que el 70% de los pacientes con adenocarcinoma gástrico y el 54% de los controles presentaron serología positiva; a diferencia del 30% de los casos y 46% de los controles con resultados negativos, encontrándose que el diagnóstico patológico de cáncer se encuentra significativamente asociado a la positividad de anticuerpos anti *H. pylori* ($p = .03$).

Niveles plasmáticos de proteína uPAR

Debido a que se observó que los niveles solubles de uPAR en el plasma, en los grupos de cáncer y del grupo control no se distribuyeron normalmente, se analizaron usando el Prueba de Wilcoxon-Mann Whitney. El grupo de cáncer presentó niveles significativamente más altos de uPAR soluble en comparación con los controles (mediana \pm IQR: $3,149 \pm 2,730$ frente a $2,006 \pm 845$ pg / mL, $p < .001$) (Tabla 5 y Figura 1).

En el análisis de correlación usado para determinar la correlación de uPAR con *H. pylori*, se encontró que existe una correlación (coeficiente de correlación de Pearson) negativa no significativa ($b = -0.01$, $p = .44$). En las pruebas estadísticas empleadas los niveles de uPAR no fueron influenciados significativamente por la edad, el número de sitios anatómicos, la localización del cáncer, la clasificación Borrmann o el tipo de tumor.

Curva ROC para las cuantificaciones de uPAR en cáncer gástrico

Se determinó la exactitud diagnóstica (sensibilidad y especificidad) de los niveles de proteínas uPAR (Figura 2) presentados en los casos para determinar el punto de corte en el que se alcanza la sensibilidad y especificidad más alta y evaluar la capacidad discriminativa de la prueba diagnóstica, es decir, su capacidad de diferenciar sujetos sanos versus enfermos. El área bajo la curva (representada por la línea continua del

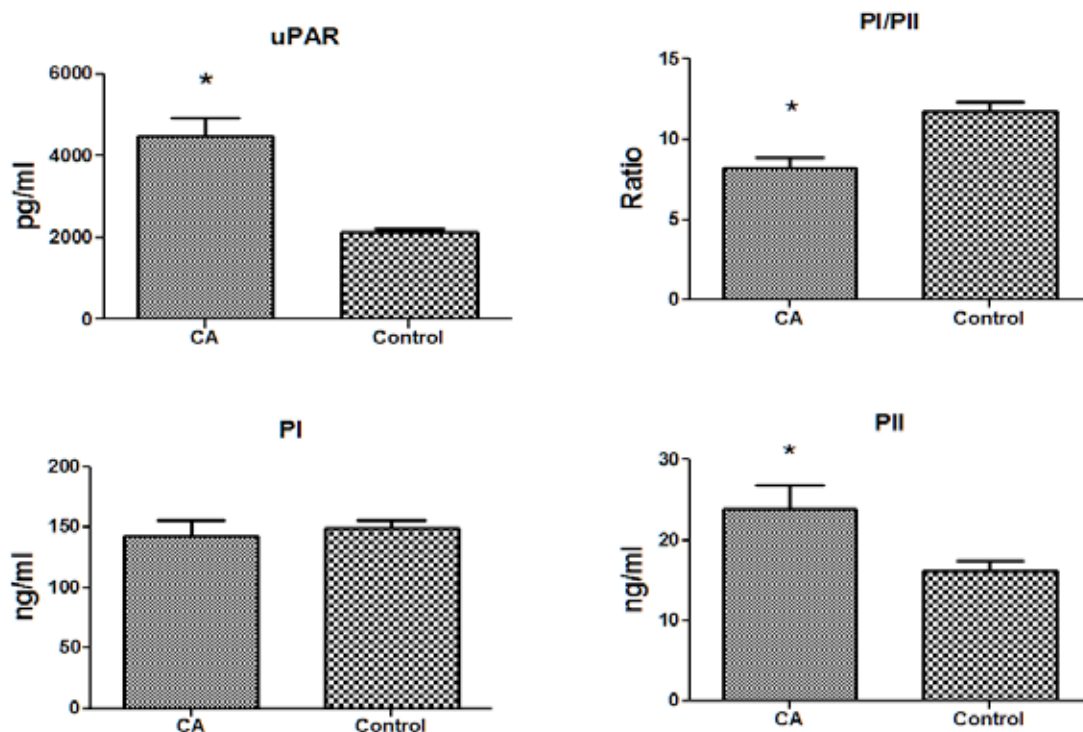


Figura 1. Diferencia en los niveles plasmáticos de uPAR en los casos y los controles

gráfico) de la cuantificación de las proteínas uPAR fue 0.80, IC 95% [0.73, 0.87] (Figura 3).

Discusión

Los resultados de este estudio mostraron que los niveles plasmáticos uPAR en pacientes con cáncer gástrico fueron significativamente ($p < .001$) más altos comparados con el grupo control. Se encontró que el tipo microscópico de tumor (intestinal vs difuso, clasificación de Lauren) no tuvo un efecto significativo sobre los niveles de uPAR y adicionalmente, que la presencia de cáncer gástrico estaba significativamente asociada con la presencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori*.

Las curvas ROC sugirieron que los niveles de uPAR tienen sensibilidad y especificidad aceptable para identificar pacientes con cáncer gástrico. Estos resultados sugieren que la prueba uPAR puede tener un potencial significativo como prueba de tamizaje para cáncer gástrico, sin interferencia significativa con la edad o el sexo del paciente.

El hallazgo que los niveles de uPAR en el plasma son significativamente más altos en pacientes con cáncer gástrico está de acuerdo con otros estudios previos que han reportado datos similares en pacientes con cáncer gástrico y otros tipos de cáncer. Algunos de estos estudios también han descrito que el nivel de uPAR podría tener un valor pronóstico, ya que han demostrado que los niveles más altos pueden estar asociados a una menor supervivencia del paciente (Boonstra et al., 2011; Mustjoki, Sidenius, & Sier, 2000; Riisbro, Christensen, & Piironen, 2002). Sin embargo, los mecanismos exactos responsables del aumento de los niveles en pacientes con cáncer aún no están completamente comprendidos. Además, se han demostrado altos niveles de expresión de uPAR tanto en células cancerígenas como en el estroma, tales como macrófagos, neutrófilos y células endoteliales (Boonstra et al., 2011; Høyer-Hansen, Behrendt, & Ploug, 1997; Kenny et al., 2008). Por lo tanto, los niveles elevados de uPAR se consideran un marcador para la remodelación tisular y la inflamación (Boonstra et al., 2011). De hecho, también se han reportado niveles elevados de uPAR en enfermedades como la artritis reumatoide y el Sida, ambos caracterizados por inflamación sistémica (Boonstra, et al., 2011; Danø et al., 1994; Kim et al., 2007; Piironen, Laursen, & Pass, 2004). Basándose en el rol biológico de los uPARs, incluyendo la activación de la plasmina y la degradación de la matriz, así como la activación de vías de señalización que conducen a alteraciones en

la adhesión celular y la motilidad, está claro que la alta expresión de uPAR por tumores les da una clara ventaja como marcadores en términos de invasión de tejidos, angiogénesis y metástasis (Boonstra et al., 2011; Dass, Ahmad, Azmi, Sarkar, & Sarkar, 2002).

Una cuestión importante aún sin respuesta es que, si los niveles plasmáticos de uPAR se correlacionan con la carga tumoral, lo cual podría ser utilizado también como un marcador de respuesta al tratamiento. El presente estudio no incluyó la evaluación de la carga/tamaño del tumor ni medidas terapéuticas tomadas posteriormente al diagnóstico de cáncer gástrico, por lo que se recomienda hacer estudios posteriores. Por otra parte, no se detectó ningún efecto significativo del diagnóstico macroscópico o tipo microscópico de los tumores en los niveles de uPAR, por lo que sí existen diferencias en la expresión de uPAR en concordancia con los diferentes tipos de tumores gástricos es otro tema pendiente de estudiar.

En cuanto a los resultados obtenidos de las pruebas serológicas realizadas a ambos grupos participantes (Tabla 4), la presentación de frecuencias de anticuerpos anti *H. pylori* para los casos y controles, puede notarse que el 70% de los pacientes con adenocarcinoma gástrico y el 54% de los controles presentaron serología positiva; a diferencia del 30% de los casos y 46% de los controles con resultados negativos. La presencia de cáncer se encontró significativamente asociada a la positividad de anticuerpos anti *H. pylori* ($p = .030$), hecho que ha sido demostrado previamente y concuerda con los resultados publicados por Parsonnet, Blaser, Perez-Perez, Hargrett-Bean y Tauxe (1992).

Se determinó el valor diagnóstico de los niveles de proteínas uPAR (Figura 2) presentados en los casos para determinar el punto de corte en el que se alcanza la sensibilidad y especificidad más alta y evaluar la capacidad discriminativa de la prueba diagnóstica, es decir, su capacidad de diferenciar sujetos sanos versus enfermos. En este caso, el AUC (representada por la línea continua del gráfico) de la cuantificación de las proteínas uPAR fue 0.80 y su IC 95% [0.732 - 0.867]. De tal forma que si se considera que un AUC = 0.80 se encuentra a medio camino entre la no-discriminación (AUC = 0.50) y la discriminación perfecta (AUC = 1.00), el AUC de las cuantificaciones de uPAR se encuentra más cercana a la perfección que a la no-discriminación, por lo tanto, resulta razonable plantear dicha determinación es un test diagnóstico con una capacidad aceptable de discriminar pacientes con y sin cáncer gástrico. Se muestra la curva de sensibilidad

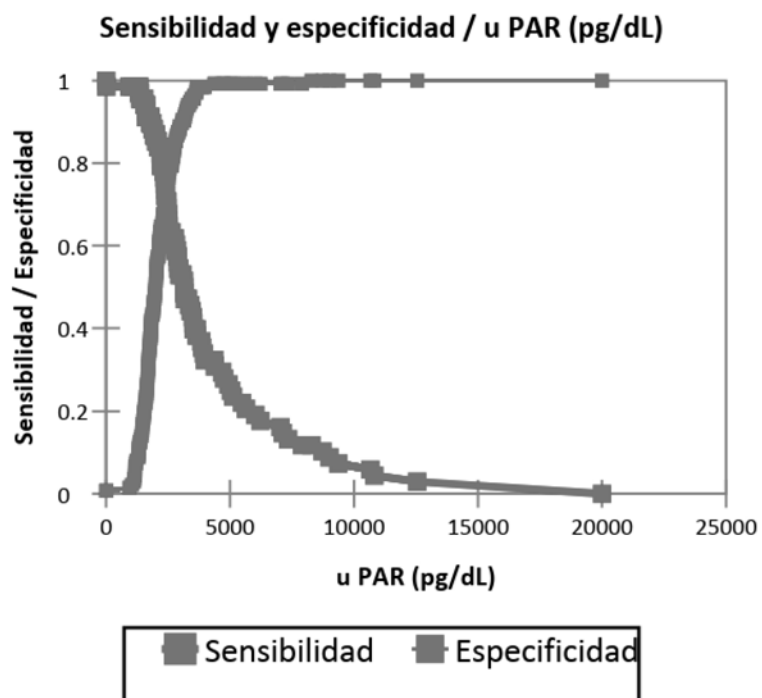


Figura 2. Curva de sensibilidad y especificidad para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica

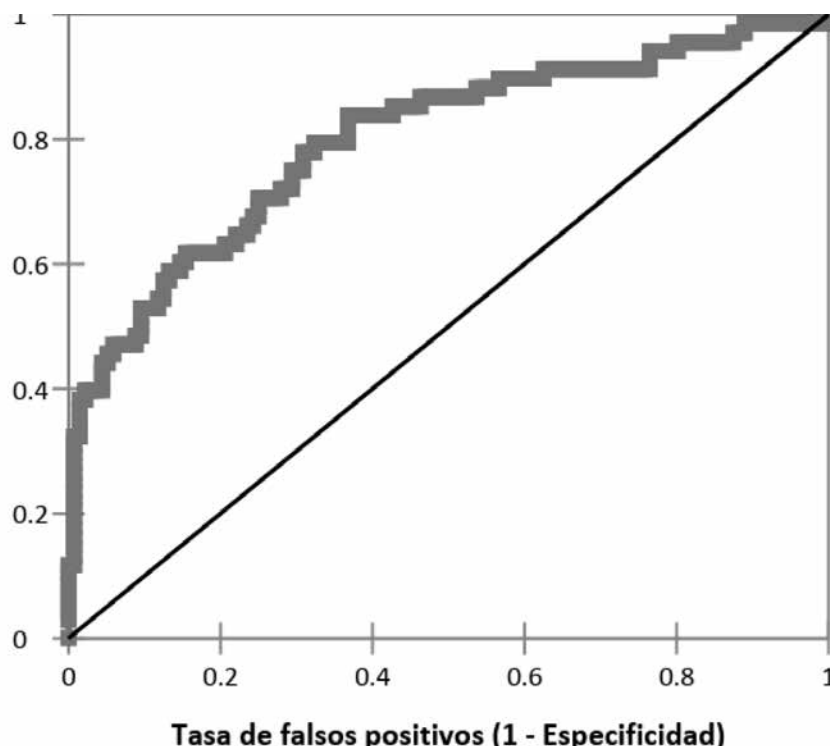


Figura 3. Curva ROC para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica uPAR (pg/dL) / AUC=0.800

y especificidad para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica (Figura 3).

Finalmente, se propone que la cuantificación de proteínas uPAR podría tener valor como un método de tamizaje inicial que podría reducir costos, de tal manera que la gastroscopia y biopsia se realizarían en casos que mostraran valores elevados de los niveles de uPAR.

Agradecimientos

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación (Digi- Usac en 2015), proyecto con número de partida 4.8.63.1.77.; con el apoyo de Hilda Valencia de Abril y Federico Nave. Además de la Vicerrectoría de Investigación de la UCR, proyecto “Red colaborativa para el desarrollo del conocimiento sobre los mecanismos de inflamación por patógenos en la carcinogénesis gástrica: investigación, divulgación e impacto en la salud humana”.

Referencias

- Alpízar-Alpízar, W., Boye-Schnack, N., Sierra, R., Illemann, M., Ramírez, J. A., Arias, A., & Laerum, O. D. (2009). Urokinase plasminogen activator receptor is expressed in invasive cells in gastric carcinomas from high- and low-risk countries. *International journal of cancer*, 126(2), 405-415. doi: 10.1002/ijc.24755
- American Cancer Society. (2010). Stomach Cancer. United States: American cancer society.
- Boonstra, M. C., Verspaget, H. W., Ganesh, S., Kubben, F. J., Vahrmeijer, A. L., van de Velde, C. J., ... Sier, C. F. (2011). Clinical applications of the urokinase receptor (uPAR) for cancer patients. *Current pharmaceutical design*, 17(19), 1890-1910.
- Bray, F., Ren, J. S., Masuyer, E., & Ferlay, J. (2013). Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *International Journal of Cancer*, 132(5), 1133-1145. doi: 10.1002/ijc.27711
- Cañas, M. M. (2009). Polimorfismo genético de interleuquina-1: Asociación con cáncer gástrico en la población de alto riesgo del Centrooccidente de Venezuela. *Revista Médica de Chile*, 137(1), 63-70.
- Chen, X. Z., Huang, C. Z., Hu, W. X., Liu, Y., & Yao, X. Q. (2018). Gastric cancer screening by combined determination of serum *Helicobacter pylori* Antibody and Pepsinogen Concentrations: ABC Method for Gastric Cancer Screening. *Chinese Medical Journal*, 131(10), 1232-1239. doi: 10.4103/0366-6999.231512
- Correa, P. (2011). Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Revista Colombiana de Cirugía*, 26, 111-117.
- Danø, K., Behrendt, N., Brünner, V., Ellis, M., Ploug & Pyke, C. (1994). The urokinase receptor. Protein structure and role in plasminogen activation and cancer invasion. *Fibrinolysis*, 8, 189-203. doi: 10.1016/0268-9499(94)90717-X
- Dass, K., Ahmad, A., Azmi, A. S., Sarkar, S. H., & Sarkar F. H. (2002). Evolving role of the uPA/uPAR system in human cancers. *Cancer Treatment Reviews*, 34(2), 122-136.
- Ferlay, J., Soerjomataram, R., Dikshit, S., Eser, S., Mathers, M. Rebelo, D., ... Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359-E386. doi:10.1002/ijc.29210
- Herrera-Goepfert, R. Z. (2004). Asociación del alelo HLA-DQB1*0501 del complejo mayor de histocompatibilidad con cáncer gástrico en México. *Gaceta Médica de México*, 140(3), 299-303.
- Hoyer-Hansen, G., Behrendt, N., & Ploug, M. (1997). The intact urokinase receptor is required for efficient vitronectin binding: receptor cleavage prevents ligand interaction. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 420, 79-85.
- International Agency for Research on Cancer, (2012). The Globocan Project. Recuperado de http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
- Kenny, S., Duval C., Sammut, S. J., Steele, I., Pritchard, D. M., Atherton, J. C., Varro, A. (2008). Increased expression of the urokinase plasminogen activator system by *Helicobacter pylori* in gastric epithelial cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 295(3), G431-441. doi: 10.1152/ajpgi.90283.2008
- Kim, M. H., Yoo, H. S., Jang, H. J., Baek, M. K., Kim, H. R., Kim, K. K., ... Jung, Y. D. (2007). *Helicobacter pylori* stimulates urokinase plasminogen activator receptor expression and cell invasive-

- ness through reactive oxygen species and NF-kappaB signaling in human gastric carcinoma cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 19(4), 689-697.
- Mustjoki, S., Sidenius N., & Sier, C. F. (2000). Soluble urokinase receptor levels correlate with number of circulating tumor cells in acute myeloid leukemia and decrease rapidly during chemotherapy. *Cancer Research*, 60, 7126-7132.
- Nagini, S. (2012). Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 4(7), 156-169. doi: 10.4251/wjgo.v4.i7.156
- Parsonnet, J., Blaser M. J., Perez-Perez G. I., Hargrett-Bean N., & Tauxe, R. V. (1992). Symptoms and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists. *Gastroenterology*, 102(1), 41-46.
- Piironen, T., Laursen, B., & Pass, J. (2004). Specific immunoassays for detection of intact and cleaved forms of urokinase receptor. *Clinical Chemistry*, 50 (11), 2059-2068.
- Park, J. Y., Forman, D., Waskito, L. A., Yamaoka, Y., & Crabtree, J. E. (2018). Epidemiology of *Helicobacter pylori* and CagA-positive infections and global variations in gastric cancer. *Toxins*, 10(4). doi: 10.3390/toxins10040163
- Pormohammad, A., Ghotaslo, R., Leylabadlo, H. E., Nasiri, M. J., Dabiri, H., & Hashemi, A. (2018). Risk of gastric cancer in association with *Helicobacter pylori* different virulence factors: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 118(March), 214-219. doi: 10.1016/j.micpath.2018.03.004
- Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología. (2008). *Registro Hospitalario Año 2008*. Guatemala: Autor
- Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología. (2012). *Registro Hospitalario Año 2012*. Guatemala: Autor
- Registro del Cáncer del Instituto de Cancerología. (2015). *Registro Hospitalario Año 2015*. Guatemala: Autor
- Riisbro, R., Christensen, I. J., & Piironen, T. (1997). Prognostic significance of soluble urokinase plasminogen activator receptor in serum and cytosol of tumor tissue from patients with primary breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 8, 1132-1141.
- Rodas-Morales, C. (2002). *Cáncer gástrico* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Serrano, A., Candelaria-Hernández, C. M., De la Garza, J., & Herrera, L. A. (2009). *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico. *Cancerología*, 4, 193-204.
- Une, C. (2008) *Validación de pruebas serológicas para detectar la infección por Helicobacter pylori en Costa Rica* (Proyecto FV-046-07). San José: Universidad de Costa Rica.
- Zilling, T. L., Walther, B. S., & Ahren, B. (1990). Delay in diagnosis of gastric cancer: a prospective study evaluating doctors' and patients' delay and its influence on five year survival. *Anticancer Research*, 10(2A), 411-416.